

US Patent Application
Serial No. 09/581,103
filed on June 8, 2000

14546 Hz/hr

SUMMARY OF EP 0 641 599

EP 0 641 599 relates to a process and an apparatus for metering liquids, in which the volume of a sample drop (14) (see Fig. 4) is determined by optical measurement. The liquid to be metered is brought into contact with a transfer element (15) so that a drop (14) adheres to the transfer element. The transfer element and the adhering liquid is illuminated in one or more directions (12), (13) and resulting images are reproduced on an optical sensor (17). The liquid volume is determined on the basis of the images. Metering is performed by transferring the liquid volume (14) adhering to the transfer element (15) to an analysis vessel.

EP 0 641 599 discloses optical measurements with liquid drops in an adhered state, but not an image-recording system for obtaining images of a drop which has been released from a dispenser. EP 0 641 599 does not disclose an image-recording system as claimed in the above U.S. patent application. In particular, it does not disclose the provision of a deviating device forming a measuring light segment along a reference line through the drop release area of the dispenser.

THIS PAGE BLANK (USPTO)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



Veröffentlichungsnummer: **0 641 599 A1**

12

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: 94113751.5

51 Int. Cl.⁶: B01L 3/02, G01F 3/00,
G01B 11/08

22 Anmeldetag: 02.09.94

30 Priorität: 08.09.93 DE 4330412

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:
08.03.95 Patentblatt 95/10

84 Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE ES FR GB IT LI NL

71 Anmelder: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH

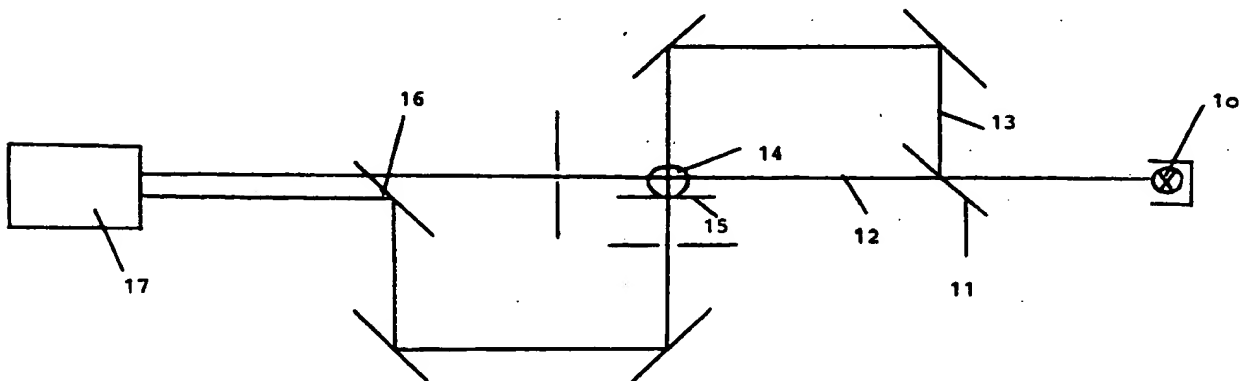
D-68298 Mannheim (DE)

72 Erfinder: Krause, Friedemann, Dr.
An der Freiheit 108
D-82377 Penzberg (DE)
Erfinder: Klose, Sigmar, Dr.
Breitenloh 7
D-82335 Berg (DE)

54 Verfahren und Vorrichtung zur Dosierung von Flüssigkeiten.

57 Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Dosierung von Flüssigkeiten, bei denen das Volumen eines Probetropfens (14) durch eine optische Vermessung bestimmt wird. Die zu dosierende Flüssigkeit (14) wird mit einem Transferelement (15) in Kontakt gebracht, so daß ein Tropfen (14) an dem Transferelement (15) haftet. Das Transferelement (15) und die anhaftende Flüssigkeit wird in einer oder mehreren Richtungen (12,13) beleuchtet und resultierende Bilder auf einen optischen Sensor (17) abgebildet. Aufgrund der Abbildungen wird das Flüssigkeitsvolumen ermittelt. Eine Dosierung erfolgt durch die Überführung des an dem Transferelement (15) anhaftenden Flüssigkeitsvolumens (14) in ein Analysegefäß.

Fig. 4



EP 0 641 599 A1

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Dosierung von Flüssigkeiten, bei denen das Volumen eines Probetropfens durch eine optische Vermessung bestimmt wird.

Die Erfindung liegt im Bereich der Dosierung von Flüssigkeiten für chemische und klinische Analysen. Ein Fachmann für dieses Gebiet ist dementsprechend ein Physiker oder Physikochemiker, der Dosierungs-
 5 verfahren des Standes der Technik kennt und ebenfalls mit optischen Vorrichtungen vertraut ist.

Im Stand der Technik sind verfahren bekannt, bei denen Flüssigkeiten aus hochpräzisen Kolben, sogenannten Dilutern, abgegeben werden. Flüssigkeitsmengen, die im Bereich weniger Mikroliter liegen, können hingegen mit sogenannten Mikropipetten dosiert werden. Eine weitere Methode, mit der Flüssigkeiten im Mikroliterbereich dosiert werden können, wird in der Deutschen Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen P 4243247.2 beschrieben. Bei diesem Verfahren wird die Höhe von Flüssigkeiten in einem Kapillarrohr durch ein elektrooptisches Element detektiert und unterschiedliche Flüssigkeitsstände im Kapillarrohr in dosierte Volumina umgerechnet. Dieses verfahren beschäftigt sich mit der optischen Detektion des Flüssigkeitsmeniskus, um eine hinreichend genaue Dosierung zu gewährleisten.

Die im Stand der Technik bekannten Verfahren besitzen daher den Nachteil, daß nur Flüssigkeitsmengen ab ca. 1 µl dosiert werden können. Außerdem sind die mit der Flüssigkeit in Kontakt kommenden Geräteteile relativ aufwendig und teuer, so daß sie nach einmaliger Benutzung nicht ohne weiteres verworfen werden können.

Die Aufgabe der Erfindung war es, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Dosierung von Flüssigkeiten zur Verfügung zu stellen, mit denen auch Flüssigkeitsvolumina, die kleiner als 1 µl sind, zuverlässig und präzise dosiert werden können. Außerdem war es Aufgabe der Erfindung, eine Kontamination der Dosier-
 20 vorrichtung auszuschließen.

Ein erfindungsgemäßes Verfahren zur Dosierung von Flüssigkeiten umfaßt die folgenden Schritte:

- a) einen Kontaktierungsschritt, bei dem ein Transferelement mit der Flüssigkeit derart in Kontakt gebracht wird, daß ein Tropfen der Flüssigkeit an dem Transferelement haftet,
- 25 b) einen Abbildungsschritt, bei dem der Tropfen und zumindest ein Teil des Transferelementes beleuchtet werden und durch ein optisches System mindestens ein Bild des Tropfens und eines Teiles des Transferelementes auf einen optischen Sensor abgebildet werden,
- c) einen optischen Meßschritt, bei dem aus dem mindestens einen Bild, das auf den optischen Sensor abgebildet wurde, Konturen des Tropfens ermittelt werden und aus den ermittelten Konturen das
 30 Volumen des Tropfens berechnet wird,
- d) einen Transferschritt, bei dem der an dem Transferelement anhaftende Tropfen in ein Analysegefäß überführt wird.

Außerdem betrifft die Erfindung ein System zur Dosierung von Flüssigkeiten mit den Elementen Beleuchtungseinheit, Justierungsvorrichtung, Detektionsvorrichtung, Auswertvorrichtung und Transfervor-
 35 richtung, bei denen das Volumen eines Flüssigkeitstropfens optisch bestimmt wird.

Das erfindungsgemäße Verfahren beschäftigt sich mit der Dosierung sehr kleiner Flüssigkeitsmengen im Bereich von wenigen Nanolitern bis hin zu Mikrolitern. Unter Dosierung ist im Rahmen dieser Erfindung nicht die Abgabe einer vorausbestimmten Flüssigkeitsmenge in ein Analysegefäß zu verstehen, sondern die Zugabe einer Flüssigkeitsmenge, die zunächst im wesentlichen nicht vorausbestimmbar ist, die jedoch vor
 40 dem Einbringen in das Analysegefäß mit großer Genauigkeit bestimmt werden kann. Im Rahmen der Analyse von Flüssigkeiten bedeutet dies in der Regel keine Einschränkung. Bekannte Analyseverfahren sind bezüglich der Probenmengen relativ flexibel. Die Genauigkeit der Analyse ist jedoch direkt von der Genauigkeit abhängig, mit der die dosierte Probenmenge bestimmt werden kann.

Bei einem erfindungsgemäßen Verfahren wird die zu dosierende Flüssigkeit mit einem Transferelement in Kontakt gebracht. Dies kann z. B. erfolgen, indem das Transferelement in die zu dosierende Flüssigkeit eingetaucht und nachfolgend herausgezogen wird. Die an dem Transferelement anhaftende Flüssigkeit stellt das Probenvolumen dar, das in das Analysegefäß gegeben werden kann. Die Flüssigkeit kann jedoch auch direkt auf ein Transferelement aufgegeben werden, auf dem sie dann durch Adhäsion und/oder Gravitations-
 45 kräfte haftet.

Entsprechend diesen unterschiedlichen Möglichkeiten, Flüssigkeiten mit dem Transferelement in Kontakt zu bringen, kann das Transferelement als solches mannigfaltige Formgestaltungen besitzen. Das Transferelement kann beispielsweise die Form eines stabförmigen Körpers besitzen, der in die zu dosierende Flüssigkeit eingetaucht wird und an dessen benetzter Stirnseite Flüssigkeit in Form eines Tropfens haften bleibt. Durch Variation der Form der Stirnseite des Transferelementes können die
 50 Flüssigkeitsmengen beeinflusst werden, die dosiert werden sollen. Die Menge anhaftender Flüssigkeit hängt weiterhin von der Oberflächenbeschaffenheit des Transferelementes und Eigenschaften der Flüssigkeit, z. B. ihrer Viskosität, ab. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das stabförmige Transferelement eine Faser. Als Materialien kommen beispielsweise Gläser, Kunststoffe, wie z. B. Polyethylen, Polypropylen,

Polymethylmetacrylat, Polyethylenterephthalat, Metalle und Legierungen in Frage. Ein erfindungsgemäß besonders günstiges Transfererelement ergibt sich, wenn die Mantelfläche des stabförmigen Körpers nur geringe Adhäsionskräfte auf die zu dosierende Flüssigkeit ausübt, dagegen die Stirnfläche gute Adsorptionseigenschaften besitzt. Durch diese Ausführungsform kann erreicht werden, daß der an der Stirnfläche des Transfererelementes verbleibende Tropfen nicht an den Wandungen des Transfererelementes adsorbiert wird und eine Volumenbestimmung erschwert. Erfindungsgemäße Transfererelemente in Stäbchenform können dadurch gewonnen werden, daß längere Fasern zerschnitten, abgebrannt oder auf andere Weise durchtrennt werden. Besonders bevorzugt ist es, eine Beschichtung des Transfererelementes vorzunehmen, wie dies beispielsweise vom Fraunhofer Institut (Material Science Monographs, 67, Seite 203 ff., 1991) beschrieben wird. Wird ein Material für das Transfererelement verwendet, das eine starke Adsorption von Probenflüssigkeit aufweist, so kann das Transfererelement äußerlich mit einem flüssigkeitsabweisenden Film beschichtet werden. Wird ein solches faserförmiges Transfererelement durchtrennt, so weist es auf der Schnittkante eine Fläche mit guter Adsorption (in der Regel hydrophil) und auf der Mantelfläche eine geringe Adsorption (in der Regel hydrophob) auf.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform besitzt das Transfererelement ein ebenes Flächenelement, das größer ist als der zu dosierende Tropfen der Flüssigkeit. Erfindungsgemäß können Folien aus Kunststoffen, Glas oder Metall eingesetzt werden. Vorteilhaft sind solche Materialien, die für Licht zumindest zum Teil durchlässig sind. Es ist ebenfalls vorteilhaft, wenn die Oberfläche des Transfererelementes flüssigkeitsabweisend ist, da sich in diesem Falle ein kugelförmiger Tropfen ergibt, und kein Zerlaufen der Flüssigkeit auf der Oberfläche stattfindet. Physikalisch lassen sich hydrophobe Oberflächenmaterialien daran erkennen, daß wässrige Flüssigkeitströpfchen auf ihnen einen hohen Randwinkel ausbilden. Für diese Anwendung geeignete Kunststoffe sind beispielsweise Polyvinylidenfluorid (Teflon), Polyethylen, Polypropylen und Polymethylmetacrylat. Oberflächen, die nur eine geringe Hydrophobie aufweisen, können durch Beschichtung mit z. B. Organosilanen imprägniert werden.

Die Bestimmung des an dem Transfererelement anhaftenden Flüssigkeitsvolumens erfolgt erfindungsgemäß durch eine optische Vermessung der Konturen der adsorbierten Flüssigkeit. Bevorzugt findet zunächst eine Vermessung der Konturen des Transfererelementes ohne Flüssigkeit statt, um das von der Flüssigkeit eventuell eingehüllte Volumen des Transfererelementes mit in die Berechnung einbeziehen zu können.

Zur optischen Vermessung wird das Transfererelement beleuchtet und der Beleuchtungsstrahl nach Passieren des Transfererelementes auf einen optischen Sensor geleitet. Da die erfindungsgemäßen Probenolumina und damit verbundene Flüssigkeitstropfen im Größenbereich von Millimetern und darunter liegen, treten bei der Beleuchtung starke Beugungserscheinungen auf. Für die Bestimmung des Volumens müssen die Konturen des Tropfens mit hoher Genauigkeit ermittelt werden, daher müssen die Beugungserscheinungen mit in die Ermittlung der Konturen einbezogen werden.

Figur 1 zeigt die Beugung von Licht an einer Kante. Aus der Helligkeitsfunktion $h(x)$ ist zu erkennen, daß die physikalische Kante (Ort x'_1) bei etwa 25 % der Helligkeit für große Werte von x (Referenzhelligkeit) liegt. Eine Bestimmung der physikalischen Kante kann daher erfolgen, indem zunächst die Referenzhelligkeit, d. h. die maximale Helligkeit, ermittelt und darauf der Ort bestimmt wird, an dem die Helligkeit 25 % der Referenzhelligkeit beträgt. In der Praxis ist es jedoch vorteilhafter, die Bestimmung der physikalischen Kante zu kalibrieren. Zu diesem Zweck wird ein Körper mit bekannten und genau definierten Konturen in den Strahlengang eingebracht. Durch Messung der Helligkeitsfunktion kann für eine gegebene Meßanordnung die prozentuale Helligkeit an der Kante ermittelt werden. In der Regel ist bei Veränderung der Meßanordnung (Beleuchtungsstärke, Strahlengang) ein neuer Kalibrierungsprozeß notwendig. Bei Messungen an Körpern mit unbekannten Konturen wird zunächst die Helligkeitsfunktion in der Umgebung der physikalischen Kante ermittelt und aufgrund der vorher durchgeführten Kalibration ausgewertet. Bei einem einfachen Schwellenwertverfahren wird der Punkt der Kurve der Kante des Objektes zugeordnet, der nach seiner prozentualen Helligkeit bezogen auf die Referenzhelligkeit der Kante entspricht.

Bei einem aufwendigeren Auswerteverfahren wird ein größerer Teil der Helligkeitskurve aufgenommen, der z. B. von $x'_1 - F$ bis $x'_1 + 5F$ reicht. Der gemessene Funktionsteil wird durch eine Spline-Funktion approximiert. Aus den Koeffizienten der Spline-Funktion wird durch Vergleich mit dem physikalischen Modell der Helligkeitsfunktion der Punkt x'_1 , d. h. die physikalische Kante ermittelt.

Die Ermittlung der Helligkeitsfunktion muß zur Bestimmung des Tropfenvolumens an vielen verschiedenen Punkten des Tropfens durchgeführt werden. Sind die Konturen des Tropfens und die des angrenzenden Transfererelementes ermittelt worden, so kann das Volumen des Tropfens berechnet werden. Dies kann beispielsweise auf der Grundlage des Modells eines runden oder elliptischen Tropfens erfolgen. In einem sehr einfachen Modell kann davon ausgegangen werden, daß der an dem Transfererelement haftende Tropfen die Form eines Kugelsegmentes besitzt. Aus den ermittelten Konturen des Tropfens kann in diesem Fall auf die Krümmung der Kugeloberfläche und damit ihren Radius zurückgeschlossen werden. Das Volumen des

Tropfens ergibt sich dann mathematisch aus dem Volumen des zugehörigen Kugelsegmentes. Bei ähnlich einfachen Modellen wird der am Transferelement haftende Tropfen als Segment eines Ellipsoids betrachtet. Mit aufwendigeren computertechnischen Verfahren kann zunächst die Oberfläche des Tropfens abgerastert und aus den Stützstellen mit einer Interpolationsfunktion die Kontur des Tropfens ermittelt werden. Die eigentliche Volumenbestimmung kann daraufhin durch Auffüllen des Raumes unter der Tropfenkontur mit Polyedern erfolgen.

Bei letzterem Verfahren können ebenfalls Unebenheiten der an den Tropfen angrenzenden Fläche des Transferelementes berücksichtigt werden.

Neben diesen mathematisch aufwendigen Verfahren können technische Lösungen zur Volumenbestimmung gefunden werden, indem bekannte Volumina an das Transferelement gebracht und die resultierenden Konturen bestimmt werden. Aus solchen Messungen können Kalibrationskurven erstellt werden, mit denen die Bestimmung unbekannter Volumina möglich ist.

Nach der Volumenbestimmung wird das Transferelement mit Probetropfen möglichst umgehend in ein Analysegefäß gegeben oder eine Analyse auf anderem Wege eingeleitet. Allgemein sollte die Zeitspanne zwischen in Kontakt bringen des Transferelementes und Beginn einer Analyse möglichst kurz gehalten werden, da auf diese Weise die Menge an verdunsteter Flüssigkeit gering gehalten werden kann. Für die Genauigkeit einer Analyse ist jedoch lediglich die Zeit zwischen in Kontakt bringen des Transferelementes und Volumenbestimmung maßgeblich, da nachfolgende Konzentrationsberechnungen auf dem gemessenen Volumen basieren. Eine Verdunstung nach der Volumenbestimmung ist für Konzentrationsberechnungen in fast allen Fällen irrelevant, da die für die klinische Analyse maßgeblichen Parameter einen hohen Dampfdruck besitzen und die Stoffmenge der Analyten im Probetropfen somit konstant bleibt.

Es hat sich herausgestellt, daß bei Probevolumina von 400 nl bis 1 µl eine Vermessung innerhalb von 3 bis 5 Sekunden nach Entnahme der Probe durchgeführt werden sollte, um Fehler in der Konzentrationsbestimmung infolge Verdunstung kleiner als 3 % zu halten. Bei bekannten Raumbedingungen, insbesondere Umgebungsluftdruck, -temperatur und Raumfeuchte, kann die innerhalb einer bestimmten Zeit verdunstete Menge entweder empirisch ermittelt oder berechnet werden. Die Beschreibung einer Berechnung der Verdunstung kleiner Tropfen findet sich in J. Appl. Phys. 65(12), 15 (Autor: Clarence N. Peiss). Mit der empirisch oder rechnerisch ermittelten Verdunstungsmenge kann das erfindungsgemäß bestimmte Tropfen-volumen korrigiert werden, um die Genauigkeit einer Analyse zu erhöhen.

Ein weiterer Weg zur Erhöhung der Dosiergenauigkeit liegt darin, die Verdunstung des Probetropfens zu verringern. Dies kann durch Verringerung der Umgebungstemperatur und vor allem durch Erhöhung der Umgebungsluftfeuchte erreicht werden.

Die Erfindung umfaßt weiterhin ein System zur Dosierung von Flüssigkeiten mit folgenden Elementen:

- a) Ein Transferelement mit mindestens einem Flüssigkeitstropfen, an dem der mindestens eine Flüssigkeitstropfen durch Adhäsions- und/oder Gravitationskräfte haftet,
- b) eine Beleuchtungseinheit, die mindestens eine Lichtquelle besitzt und eine Anordnung aus Linsen, Spiegeln und Blenden besitzen kann,
- c) eine Justierungsvorrichtung, die das Transferelement haltet und eine Bewegung des Transferelementes in mindestens einer Raumrichtung innerhalb des Lichtweges der Beleuchtungseinheit ermöglicht,
- d) eine Detektionsvorrichtung, die Licht detektiert, nachdem dieses Licht das Transferelement passiert hat und die außerdem eine Anordnung aus Linsen, Spiegeln und Blenden besitzen kann,
- e) eine Auswertevorrichtung, die aus Signalen der Detektionsvorrichtung Konturen des mindestens einen Flüssigkeitstropfens ermittelt und daraus das Volumen des Flüssigkeitstropfens berechnet,
- f) einer Transfervorrichtung, durch die das Transferelement mit dem mindestens einen Flüssigkeitstropfen in ein Analysegefäß überführt wird.

Ein erfindungsgemäßes System besitzt eine Beleuchtungseinheit, mit der Transferelement und der anhaftende Flüssigkeitstropfen beleuchtet werden. Als Lichtquelle sind herkömmliche Lampen, z. B. Glühlampen oder Halogenlampen, geeignet. Bevorzugt werden diese Lampen so betrieben, daß Helligkeitsschwankungen vermieden werden. In einer vorteilhaften Anordnung wird durch Linsensysteme aus dem Licht der Lichtquelle ein Parallelstrahlenbündel erzeugt. Mit diesem Strahlungs-bündel wird das Transferelement samt anhaftendem Tropfen beleuchtet. Mit einem zweiten Linsensystem wird ein Bild des Tropfens und des angrenzenden Transferelementes auf einen Sensor abgebildet. Eine reproduzierbare und damit besonders vorteilhafte Anordnung ergibt sich, wenn sich der Flüssigkeitstropfen im Brennpunkt des ihn abbildenden Linsensystemes befindet. Dies kann mit Hilfe einer Justierungsvorrichtung erreicht werden.

Das Bild des Tropfens wird auf einen optischen Sensor geworfen, der eine ein- oder bevorzugt zweidimensionale Auswertung der Helligkeit gestattet. Zu diesem Zweck sind sogenannte Vidikons oder Halbleiterbildwandler geeignet. Bevorzugt werden sogenannte CCD-Arrays (charge coupled devices) eingesetzt, da diese im Handel relativ preisgünstig erhältlich sind und eine hohe Auflösung des Bildes

gewährleisten.

Der jeweilige Sensor ist mit einem Computersystem verbunden, das aus den Signalen der Elemente des Sensors eine ein- oder zweidimensionale Darstellung erzeugt.

Bei dem bisher beschriebenen Verfahren wird eine ein- oder zweidimensionale Projektion des Tropfens erhalten. Zur Volumenbestimmung ist jedoch die Raumstruktur des Tropfens notwendig. Daher wird der Tropfen mit dem angrenzenden Transferelement bevorzugt aus mehreren Raumrichtungen beleuchtet. Dies kann erfolgen, indem das Licht der Strahlungsquelle durch Strahlungsteiler (z. B. Prismen) aufgespalten, durch Spiegelsysteme umgelenkt und aus verschiedenen Raumrichtungen auf den Tropfen gerichtet wird. Bei einem stabförmigen Transferelement ist die Beleuchtung des Tropfens in zwei oder drei Richtungen senkrecht zur Achse des Transferelementes bevorzugt. Bei einem Tropfen, der sich auf einem ebenen Transferelement befindet, ist eine Beleuchtung parallel und senkrecht zur Ebene des Transferelementes bevorzugt.

Nachdem die Strahlungsbündel den Tropfen passiert haben, können sie direkt auf mehrere Sensoren geleitet werden oder bevorzugt durch Spiegelsysteme vereinigt und auf einen einzelnen Sensor geleitet werden. Bei Verwendung eines einzelnen Sensors ist es vorteilhaft, wenn die einzelnen Strahlungsgänge nacheinander aktiviert bzw. die jeweils restlichen Strahlungsgänge deaktiviert werden können.

Die folgenden Figuren sollen zur Verdeutlichung der Erfindung dienen:

Figur 1

Theoretischer Verlauf der Helligkeitsfunktion bei Beugung an einer Kante

Figur 2

Stabförmiges Transferelement mit und ohne Tropfen

Figur 3

Vorrichtung zur optischen Volumenbestimmung mit einem stabförmigen Transferelement

Figur 4

Vorrichtung zur optischen Volumenbestimmung mit einem flächigen Transferelement

Figur 5

Volumenbestimmung von elliptischen Tropfen

Figur 2a zeigt eine Glasfaser ohne Probenflüssigkeit. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Stirnseite Unebenheiten aufweist. Figur 2b zeigt die gleiche Glasfaser nachdem sie mit Probenflüssigkeit in Kontakt gebracht wurde. Die anhaftende Flüssigkeit nimmt die Gestalt eines Kugelsegmentes an, jedoch ist in diesem Fall bei der Volumenbestimmung die Struktur der Abbruchkante der Glasfaser zu berücksichtigen.

Figur 3 zeigt schematisch den Aufbau eines Systems zur Messung von Probenvolumina von Tröpfchen an einem stabförmigen Transferelement. Das Licht der Lampe (1) wird in zwei Strahlen (2) und (3) aufgeteilt und jeder Strahl über ein System aus Linsen, Blenden und Spiegeln auf die an dem Transferelement (4) haftende Probe gerichtet. Die Achse des stabförmigen Transferelementes befindet sich senkrecht zur Zeichenebene. Die Lichtstrahlen (2) und (3) bestrahlen daher den Probentropfen aus zwei senkrechten Richtungen, die ihrerseits senkrecht zur Achse des Transferelementes sind. Der beleuchtete Probentropfen befindet sich im Brennpunkt der Linsensysteme (5) und (6), durch die er so abgebildet wird, daß auf der CCD-Kamera (8) ein scharfes Bild entsteht. Die aus den Linsensystemen (5) und (6) austretenden Strahlungsbündel durchlaufen Anordnungen von Spiegeln, Blenden und Linsen. Die Teilstrahlen werden durch den halbdurchlässigen Spiegel (7) gemeinsam auf die CCD-Kamera (8) gelenkt.

Figur 4 zeigt ein System zur Bestimmung des Volumens eines Tropfens auf einer Unterlage. Die Strahlung der Lichtquelle (10) wird durch einen Strahlungsteiler (11) in zwei Teilstrahlen (12) und (13) aufgespalten. Die Probenflüssigkeit (14) befindet sich in Form eines Tröpfchens auf einer Unterlage (15). Der Lichtstrahl (12) beleuchtet den Probentropfen von der Seite, d. h. parallel zum ebenen Probenträger (15). Der Strahl (13) beleuchtet den Tropfen (14) von oben und durchtritt die lichtdurchlässige Unterlage (15). Nachdem die Strahlen (12) und (13) den Probentropfen passiert haben, werden sie durch einen halbdurchlässigen Spiegel (16) gemeinsam auf einen Sensor (17) abgebildet.

Figur 5 zeigt eine Anordnung zur Messung von Probentropfen an einem stäbchenförmigen Transferelement, die Ellipsenform besitzen. Bei der Herstellung von Transferelementen durch z. B. das Zerschneiden eines Fadens, entstehen Schnittflächen, die keine ideale Kreisform aufweisen, sondern elliptische Gestalt besitzen können. Ein Probentropfen, der an solch einem Transferelement haftet, nimmt ebenfalls elliptische Gestalt an. Es ist auch möglich, daß ein Tropfen, der sich an einem kreisrunden stäbchenförmigen Transferelement befindet, eine verzerrte Gestalt annimmt. Entsprechend ist auch bei Aufbringung eines Tropfens auf ein ebenes Transferelement damit zu rechnen, daß der Tropfen keine ideale kreisförmige Gestalt besitzt, sondern eine Verzerrung aufweist. Zur Bestimmung der großen und kleinen Hauptachse einer Ellipse ist die Beleuchtung des Probentropfens in drei Richtungen, die sich in einer Ebene befinden, notwendig.

Das von der Strahlungsquelle (20) ausgehende Licht wird durch eine Sammellinse gebündelt und auf einen Strahlungsteiler (21) geleitet, der das Strahlungsbündel in die Bündel (22) und (23) zerlegt. Das Strahlungsbündel (22) wird durch den Strahlungsteiler (24) aufgespalten, so daß ein weiteres Strahlungsbündel (25) resultiert. Die Strahlen (22), (23) und (25) beleuchten ein stäbchenförmiges Transferelement (26) und den daran haftenden Probentropfen senkrecht zur Achse des Transferelementes. In Figur 5 ist die Achse des stabförmigen Transferelementes senkrecht zur Zeichnungsachse ausgerichtet. Die Strahlungsbündel befinden sich in einer Ebene (der Zeichenebene) und besitzen zueinander einen Winkel von 60° . Durch die halbdurchlässigen Spiegel (27) und (28) werden die Strahlungsbündel vereinigt und auf den Sensor (29) geleitet.

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

Beispiel 1:

An einem Glasstäbchen wurde ein kleiner Glaspfropfen angeschmolzen, der zunächst mit einer Mikrometerschraube vermessen wurde. Darauf folgend wurde diese Anordnung in eine Meßapparatur analog Figur 3 eingebracht. Zum Vergleich verschiedener Auswerteverfahren wurden Bilder des Tropfens elektrooptisch bestimmt. Die Bilder wurden mit einem Spline-Funktions-Verfahren und mit einem Schwellwertverfahren ausgewertet. Beim Spline-Funktions-Verfahren wurde, wie weiter oben beschrieben, die Information des Beugungsbildes verwertet, während beim Schwellwertverfahren lediglich bestimmt wurde, an welchem Ort die Helligkeit 25 % der Referenzhelligkeit beträgt. Während bei der Messung mit einer Mikrometerschraube von selbst das Durchmessermaximum bestimmt wird, müssen bei den elektrooptischen Verfahren die Konturen des Tropfens in verschiedenen Schichten bestimmt werden, um den Durchmesser zu ermitteln. Tabelle I zeigt die Ergebnisse für Meßserien an zwei unterschiedlich großen Glaspföpfchen. Die Bildaufnahme wurde mit einer CCD-Kamera durchgeführt, deren einzelne Elemente (Pixel) Ausmaße von $7 \times 7 \mu\text{m}$ besitzen. Durch ein Interpolationsverfahren konnte die Auflösung jedoch auf Elemente mit einer Größe von ca. $1,8 \times 1,8 \mu\text{m}$ vergrößert werden. Die Tabelle zeigt, daß die Durchmesser der Glaspföpfchen durch die elektrooptischen Verfahren gut reproduziert werden. Lediglich Meßwert 7 fällt aus dem Rahmen, da hier mit einer sehr geringen Helligkeit gemessen wurde.

Beispiel 2:

Dosierung eines Probenvolumens mit einem stabförmigen Transferelement

Das Transferelement wird in einer Meßapparatur (nach Fig. 3) so angebracht, daß das Stäbchenende auf die CCD-Kamera scharf abgebildet wird. Als Transferelement kann beispielsweise ein Stück einer Glasfaser dienen oder ein Stück eines dünnen an der Außenseite beschichteten Metalldrähtchens. Mit einer entsprechenden Vorrichtung wird eine Probenküvette zum Transferelement gebracht, wobei das Stäbchen in die Probenflüssigkeit eintaucht. Über einen an der Meßapparatur angebrachten Liquid-Level-Sensor wird dabei die Eindringtiefe des Stäbchens in die Flüssigkeit überwacht. Nach dem Entfernen der Probenküvette wird das Transferelement mit anhängender Flüssigkeit sofort erfindungsgemäß optisch vermessen, um Verdunstungsfehler weitgehend zu vermeiden. Anschließend wird das Stäbchen zusammen mit der Probe in die Reaktionsküvette abgegeben und nach Berechnung des Probenvolumens die entsprechende Menge an Reagenzien bzw. Pufferlösung zugegeben.

Tabelle I

Nr.	Spline-Funktions- verfahren	Schwellwertverfahren	Mikrometerschraube Durchmesser in μm
	Durchmesser in Pixel in μm	Durchmesser in Pixel in μm	
1	205,59 367,11	206,57 368,86	368,3
2	205,82 367,52	206,85 369,36	368,3
3	206,11 367,80	207,18 369,71	368,3
4	206,69 368,64	207,60 370,26	368,3
5	205,16 360,25	206,11 361,95	359,3
6	205,83 361,43	206,25 362,19	359,3
7	197,63 347,03	192,73 338,42	359,3

Bezugszeichenliste

- (1) Lampe
 (2), (3) Strahlengänge
 (4) Transferelement

- (5), (6) Linsensysteme
- (7) Spiegel
- (8) CCD-Kamera
- (10) Lichtquelle
- 5 (11) Strahlungsteiler
- (12), (13) Teilstrahlen
- (14) Probenflüssigkeit
- (15) Unterlage
- (16) halbdurchlässiger Spiegel
- 10 (17) Sensor
- (20) Strahlungsquelle
- (21) Strahlungsteiler
- (22), (23) Strahlungsbündel
- (24) Strahlungsteiler
- 15 (25) Strahlungsbündel
- (26) Transferelement
- (27), (28) halbdurchlässige Spiegel
- (29) Sensor

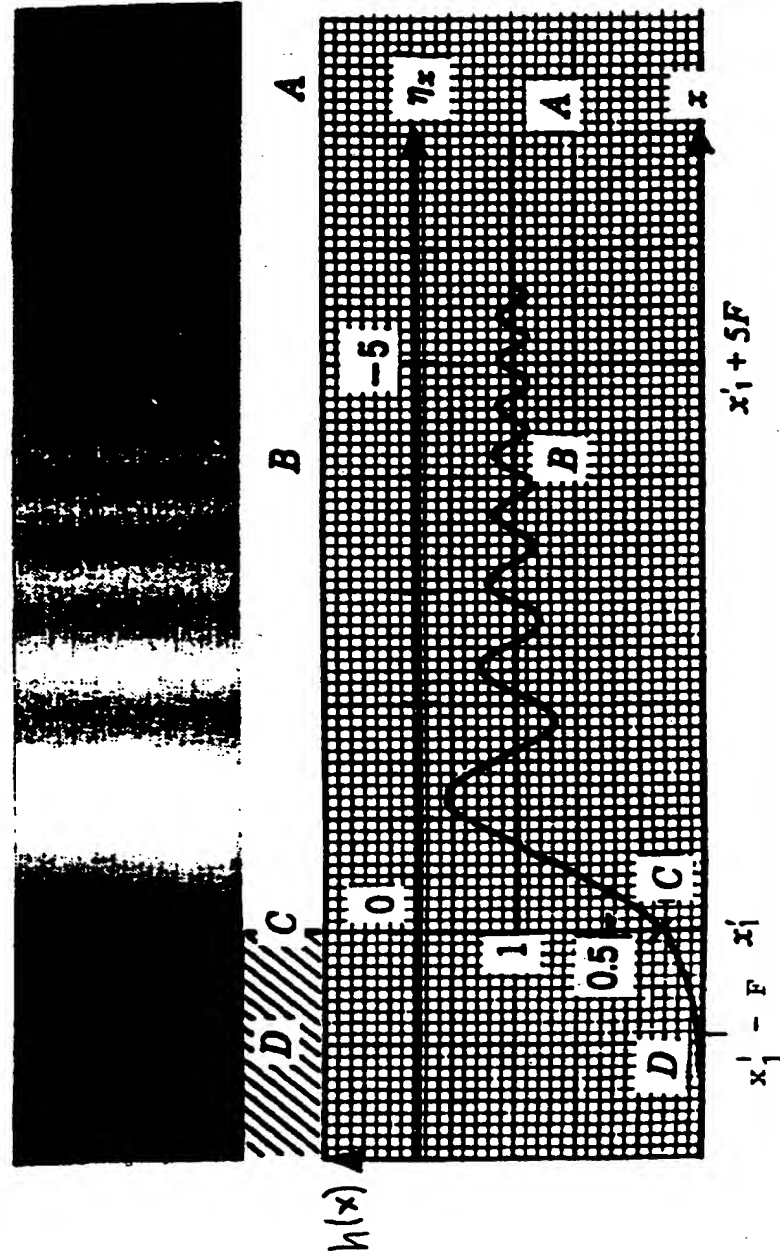
20 Patentansprüche

1. Verfahren zur Dosierung einer Flüssigkeit umfassend folgende Schritte:
 - a) einen Kontaktierungsschritt, bei dem ein Transferelement mit der Flüssigkeit derart in Kontakt gebracht wird, daß ein Tropfen der Flüssigkeit an dem Transferelement haftet,
 - 25 b) einen Abbildungsschritt, bei dem der Tropfen und zumindest ein Teil des Transferelementes beleuchtet werden und durch ein optisches System mindestens ein Bild des Tropfens und eines Teiles des Transferelementes auf einen optischen Sensor abgebildet werden,
 - c) einen optischen Meßschritt, bei dem aus dem mindestens einen Bild, das auf den optischen Sensor abgebildet wurde, Konturen des Tropfens ermittelt werden und aus den ermittelten Konturen das Volumen des Tropfens berechnet wird,
 - 30 d) einen Transferschritt, bei dem der an dem Transferelement anhaftende Tropfen in ein Analysegefäß überführt wird.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem der Tropfen und ein Teil des Transferelementes in mindestens zwei zueinander nicht parallelen Raumrichtungen beleuchtet und die resultierenden mindestens zwei Abbildungen des Tropfens und eines Teiles des Transferelementes zur Volumenberechnung verwendet werden.
- 35 3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem das Transferelement ein stabförmiger Körper ist, der mindestens eine Stirnseite und eine Mantelfläche besitzt und der Tropfen an der Stirnseite des Transferelementes anhaftet.
4. Verfahren gemäß Anspruch 3, bei dem das stabförmige Transferelement eine Mantelfläche, an der die Flüssigkeit im wesentlichen nicht haftet und eine Stirnseite, an der die Flüssigkeit haftet, besitzt.
- 45 5. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem das Transferelement ein ebenes Flächenelement aufweist, das größer als der Tropfendurchmesser ist.
6. Verfahren gemäß Anspruch 5, bei dem der Randwinkel des Tropfens mit dem ebenen Flächenelement des Transferelementes größer als 90° ist.
- 50 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 5 zur Dosierung von Probenvolumina im Bereich von 10 bis 500 nl.
- 55 8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 5, bei dem die mindestens eine Abbildung des Tropfens mit einer CCD-Kamera aufgenommen wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 5, bei dem die Konturen des Tropfens und eines Teils des Transferelementes aus der mindestens einen Abbildung durch einen Schwellenwert der Helligkeit oder aus dem Beugungsmuster mit einer Spline-Funktion bestimmt werden.

- 5 10. System zur Dosierung von Flüssigkeiten, das folgende Elemente beinhaltet:
- a) Ein Transferelement mit mindestens einem Flüssigkeitstropfen, an dem der mindestens eine Flüssigkeitstropfen durch Adhäsions- und/oder Gravitationskräfte haftet,
 - b) eine Beleuchtungseinheit, die mindestens eine Lichtquelle besitzt und eine Anordnung aus Linsen, Spiegeln und Blenden besitzen kann,
 - 10 c) eine Justierungsvorrichtung, die das Transferelement haltet und eine Bewegung des Transferelementes in mindestens einer Raumrichtung innerhalb des Lichtweges der Beleuchtungseinheit ermöglicht,
 - d) eine Detektionsvorrichtung, die Licht detektiert, nachdem dieses Licht das Transferelement passiert hat und die außerdem eine Anordnung aus Linsen, Spiegeln und Blenden besitzen kann,
 - 15 e) eine Auswertevorrichtung, die aus Signalen der Detektionsvorrichtung Konturen des mindestens einen Flüssigkeitstropfens ermittelt und daraus das Volumen des Flüssigkeitstropfens berechnet,
 - f) eine Transfervorrichtung, durch die das Transferelement mit dem mindestens einen Flüssigkeitstropfen in ein Analysegefäß überführt wird.
- 20 11. System gemäß Anspruch 10, bei dem die Beleuchtungseinheit mindestens zwei Strahlungsbündel besitzt, die den am Transferelement haftenden Tropfen in nicht parallelen Raumrichtungen beleuchten.
12. System gemäß Anspruch 10 oder 11, bei dem das Transferelement ein stabförmiger Körper ist, der mindestens eine Stirnseite und eine Mantelfläche aufweist.
- 25 13. System gemäß Anspruch 10 oder 11, bei dem das Transferelement ein ebenes Flächenelement aufweist, das größer als der Tropfendurchmesser ist.
14. System gemäß Anspruch 10, bei dem die Detektionsvorrichtung eine CCD-Kamera ist, die mit einem System aus Linsen, Spiegeln und Blenden ausgestattet sein kann.
- 30 15. System gemäß Anspruch 10, bei dem die Auswertevorrichtung aus Signalen der Detektionsvorrichtung mit einem Schwellenwert- oder Spline-Funktions-Verfahren Konturen des mindestens einen Flüssigkeitstropfens ermittelt und daraus das Volumen des mindestens einen Flüssigkeitstropfens berechnet.
- 35 16. System gemäß Anspruch 10, bei dem die Justierungsvorrichtung den mindestens einen Flüssigkeitstropfen im Brennpunkt des Linsensystems positioniert und das mindestens ein Bild des mindestens einen Flüssigkeitstropfens auf einen optischen Sensor wirft.

Fig. 1



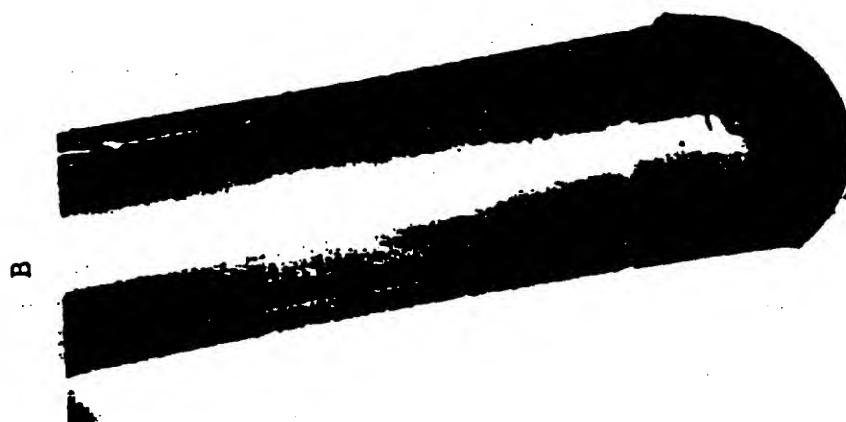


Fig. 2

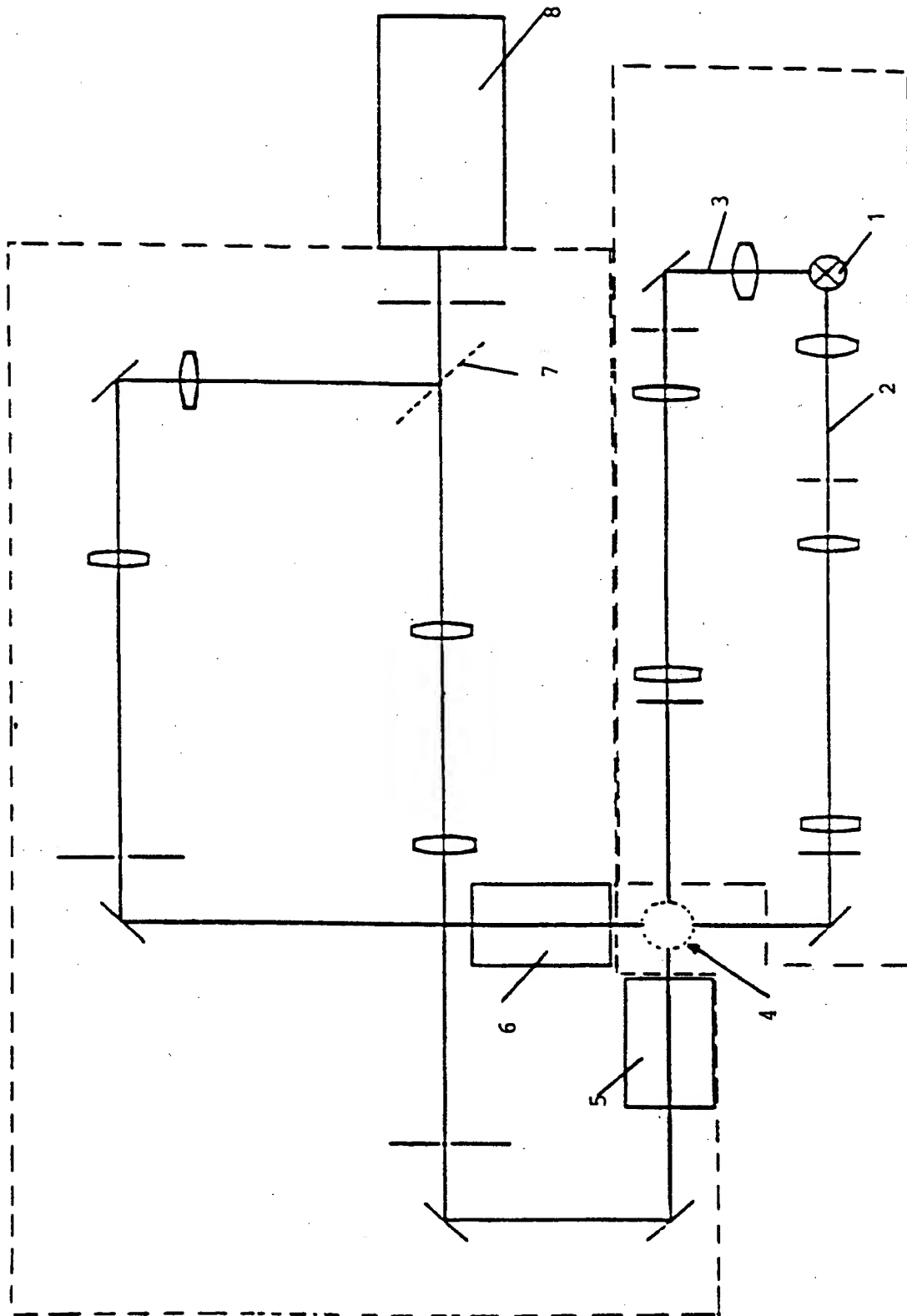


Fig. 3

Fig. 4

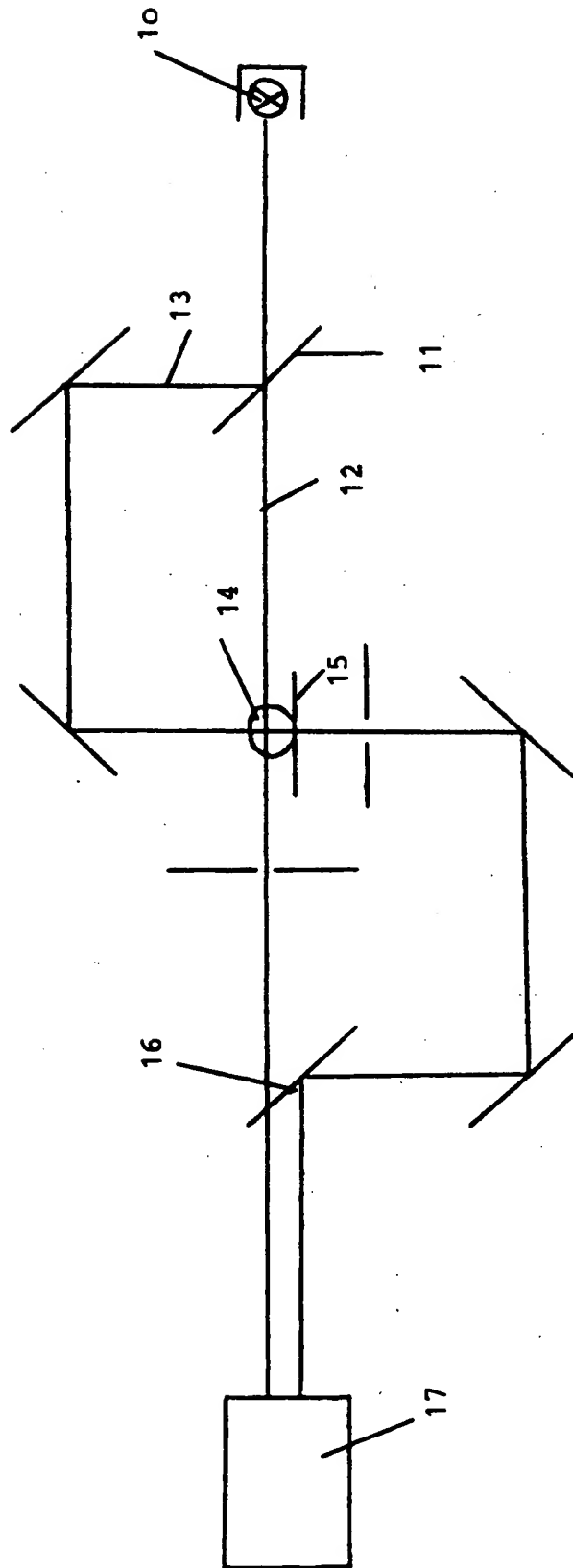
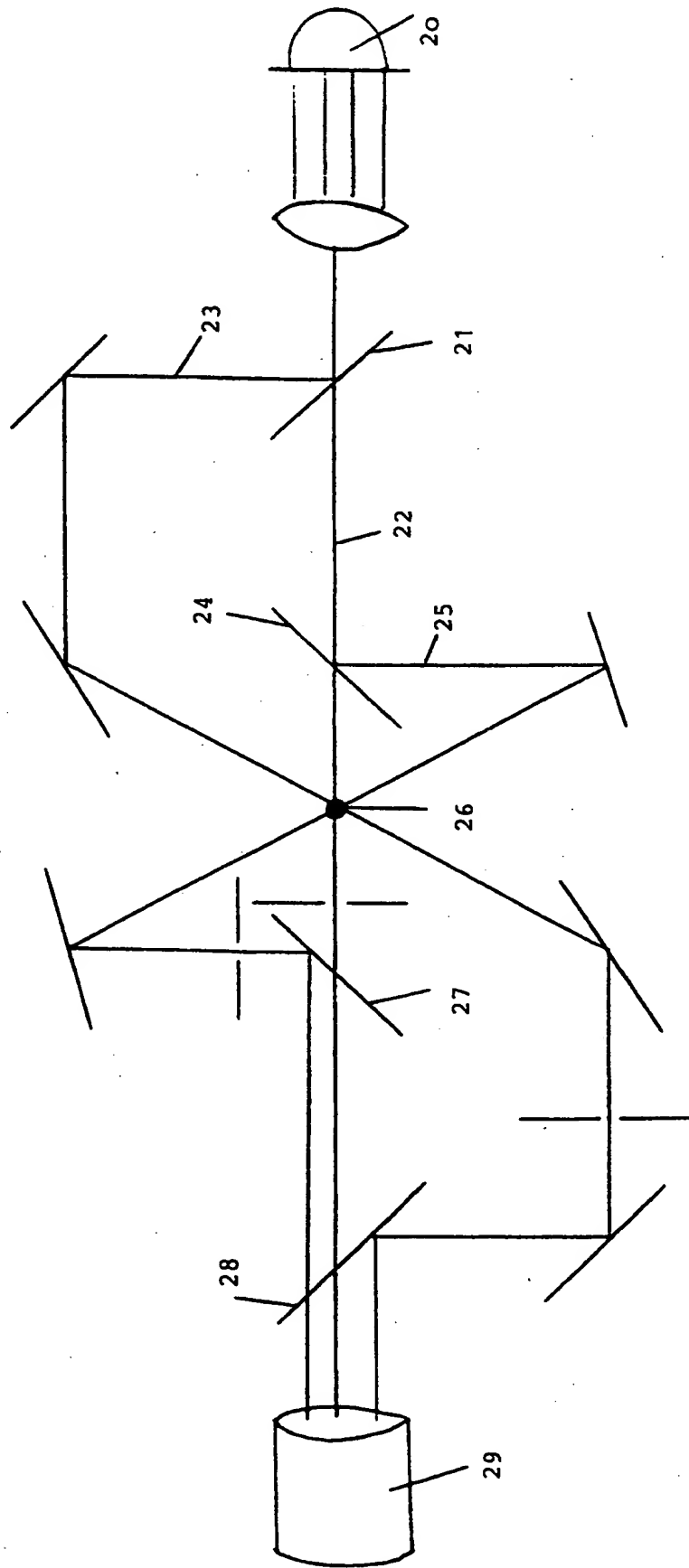


Fig. 5





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 94 11 3751

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
X A	GB-A-2 259 568 (EMHART INC) * Seite 2, Zeile 1 - Zeile 25; Abbildungen * * Seite 3, Zeile 32 - Seite 4, Zeile 15; Anspruch 4 *	10, 14 1	B01L3/02 G01F3/00 G01B11/08
A	--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 11, no. 68 (P-553) (2515) 28. Februar 1987 & JP-A-61 231 461 (FUJI) * Zusammenfassung *	1	
A	--- US-A-4 328 801 (MARX) * Spalte 3, Zeile 27 - Zeile 68; Abbildung 2A *	1, 2	
A	--- US-A-4 345 028 (NELSON) * Spalte 7, Zeile 33 - Spalte 8, Zeile 31; Abbildungen 3-4, 9 *	1, 10, 12	
A	--- US-A-3 164 304 (JAGER) * Spalte 2, Zeile 31 - Zeile 34; Abbildungen 1-5 *	1, 10, 12	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
A	--- GB-A-2 092 758 (SHELL) * Seite 1, Zeile 69 - Zeile 107; Abbildung * * Seite 2, Zeile 29 - Zeile 49 *	1, 10, 12	B01L G01N G01B G01F
A	--- WO-A-93 09407 (ROELOFS) * Seite 1, Zeile 24 - Seite 2, Zeile 15 *	1, 2, 10, 11, 14	
A	--- GB-A-2 187 549 (BAT CIGARETTENFABRIKEN) * Seite 1, Zeile 65 - Seite 2, Zeile 10 * * Seite 4, Zeile 40 - Seite 5, Zeile 3; Abbildungen 2-3 *	2	
	--- -/-		
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenart DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 8. Dezember 1994	
		Prüfer HOCQUET, A	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 94 11 3751

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
A	US-A-4 041 995 (COLUMBUS) * Spalte 3, Zeile 28 - Zeile 43 * * Spalte 7, Zeile 27 - Zeile 36; Abbildungen 5A-C * * Spalte 8, Zeile 7 - Zeile 31 * ---	3,4	
A	WO-A-90 05910 (I-STAT CORPORATION) * Seite 108, Zeile 8 - Seite 109, Zeile 18; Abbildungen 12,15 * ---	1,4,7,10	
A	US-A-4 441 532 (HRUBESH) * Spalte 3, Zeile 13 - Zeile 30; Abbildungen *	7	
A	WO-A-86 06832 (LASER METRIC SYSTEMS) * Seite 8, Zeile 5 - Seite 9, Absatz 1 * ---	9,15	
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 8, no. 265 (P-318) (1702) 5. Dezember 1984 & JP-A-59 135 306 (TORAY) * Zusammenfassung * -----	9,15	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 8. Dezember 1994	Prüfer HOCQUET, A
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument ----- & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 (01.12.1984)